



대한민국 특허청

KOREAN INTELLECTUAL PROPERTY OFFICE

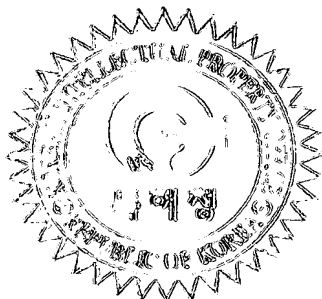
별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 특허출원 2001년 제 7263 호
Application Number PATENT-2001-0007263

출원년월일 : 2001년 02월 14일
Date of Application FEB 14, 2001

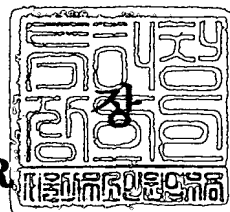
출원인 : 주식회사 엘지생활건강
Applicant(s) LG HOUSEHOLD & HEALTH CARE LTD.



2002 년 02 월 09 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】 특허출원서
【권리구분】 특허
【수신처】 특허청장
【제출일자】 2001.02.14
【발명의 명칭】 [감마 하이드록시 엔- 메틸-엘-루신9]사이클로스포린 에이를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제
【발명의 영문명칭】 Use of [γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine9] cyclosporin A for hair growth
【출원인】
【명칭】 주식회사 엘지화학
【출원인코드】 1-1998-001275-0
【대리인】
【성명】 이병현
【대리인코드】 9-1999-000297-5
【포괄위임등록번호】 1999-052963-1
【발명자】
【성명의 국문표기】 김상년
【성명의 영문표기】 KIM, Sang-Nyun
【주민등록번호】 601203-1384128
【우편번호】 305-728
【주소】 대전광역시 유성구 전민동 462-5 세종아파트 109-1005
【국적】 KR
【발명자】
【성명의 국문표기】 안호정
【성명의 영문표기】 AHN, Ho-Jeong
【주민등록번호】 460511-1094718
【우편번호】 305-728
【주소】 대전광역시 유성구 전민동 462-5 세종아파트 107동 1106호
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 이창우
【성명의 영문표기】 LEE, Chang-Woo
【주민등록번호】 620504-1046117
【우편번호】 302-150
【주소】 대전광역시 서구 만년동 상록수아파트 106동 404호
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 김정훈
【성명의 영문표기】 KIM, Jung-Hun
【주민등록번호】 650706-1905818
【우편번호】 305-340
【주소】 대전광역시 유성구 도룡동 엘지아파트 1동 103호
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 김종일
【성명의 영문표기】 KIM, Jong-Il
【주민등록번호】 680903-1403517
【우편번호】 305-340
【주소】 대전광역시 유성구 도룡동 엘지아파트 1동 106호
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 이헌식
【성명의 영문표기】 LEE, Heon-Sik
【주민등록번호】 701116-1716115
【우편번호】 305-330
【주소】 대전광역시 유성구 지족동 열매마을 709-602
【국적】 KR

【발명자】

【성명의 국문표기】 이민호
【성명의 영문표기】 LEE, Min-Ho
【주민등록번호】 610818-1000514

【우편번호】	305-340
【주소】	대전광역시 유성구 도룡동 386-4 엘지사택 1-105
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	조호성
【성명의 영문표기】	CHO, Ho-Song
【주민등록번호】	681118-1559823
【우편번호】	302-280
【주소】	대전광역시 서구 월평동 311-1 하나로아파트 110-1405
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김승진
【성명의 영문표기】	KIM, Seung-Jin
【주민등록번호】	710624-1037816
【우편번호】	305-340
【주소】	대전광역시 유성구 도룡동 386-4 엘지화학사원아파트 2-304
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박홍순
【성명의 영문표기】	PARK, Hong-Soon
【주민등록번호】	611202-1676812
【우편번호】	305-728
【주소】	대전광역시 유성구 전민동 세종아파트 105-102
【국적】	KR
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대리인 이병현 (인)

【수수료】

【기본출원료】 20 면 29,000 원

【가산출원료】 12 면 12,000 원

【우선권주장료】 0 건 0 원

【심사청구료】 0 항 0 원

【합계】 41,000 원

【첨부서류】 1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 사이클로스포린 A의 9번 N-메틸 L-루신의 감마 탄소 위치에 미생물 대사 과정에 의해 히드록시기가 첨가된 [감마 히드록시 N-메틸 L-루신⁹] 사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporins A)를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제에 관한 것이다.

【대표도】

도 2

【색인어】

사이클로스포린 A, 히드록시기, 모발성장 촉진제, 감마탄소

【명세서】**【발명의 명칭】**

[감마 히드록시 엔- 메틸-엘-루신⁹]사이클로스포린 에이를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제 {Use of [γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A for hair growth}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)의 고속액체크로마토그래피 결과를 나타낸 것이다.

도 2는 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)의 ¹H-NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다.

도 3은 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A) ¹³C-NMR 스펙트럼을 나타낸 것이다

도 4는 C57BL/6 마우스를 이용한 사이클로스포린 A와 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A 유도체들의 발모 효과를 평가 실험한 사진으로 대조군을 나타낸 것이다.

도 5는 C57BL/6 마우스를 이용한 사이클로스포린 A와 [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A 유도체들의 발모 효과를 평가 실험한 사진으로 사이클로스포린 A를 적용한 군을 나타낸 것이다.

도 6은 C57BL/6 마우스를 이용한 사이클로스포린 A와 [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A 유도체들의 발모 효과를 평가 실험한 사진으로 [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A를 적용한 군을 나타낸 것이다.

【발명의 상세한 설명】

【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<7> 본 발명은 사이클로스포린(cyclosporin) 유도체를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제에 관한 것이다. 구체적으로는, [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)를 유효성분으로 함유하는 모발 성장 촉진제에 관한 것이다.

<8> 인체의 모발은 약 10 만 내지 15 만 개 정도이며, 각각의 모발은 서로 다른 주기를 가지며 성장기(anagen), 퇴행기(catagen), 휴지기(telogen)를 거쳐 성장, 탈락한다. 이러한 주기는 3~6년에 걸쳐 반복되는데 그 결과 일일 평균 50 내지 100 개의 모발이 정상적으로 탈락하게 된다. 일반적으로 탈모증이라 함은 이러한 주기 중에서 성장기의 모발 비율이 짧아지고 퇴행기 또는 휴지기의 모발이 많아져 비정상적으로 모발이 탈락하는 숫자가 많아지는 것을 일컫는다.

- <9> 탈모의 원인으로는 혈액순환 불량설, 남성호르몬 작용 과잉설, 피지 분비 과잉설, 과산화물, 세균 등에 의한 두피 기능 저하설, 유전적 요인, 노화, 스트레스 등이 논의되어 왔었다. 그러나, 현재까지 탈모에 관한 명확한 원인은 밝혀져 있지 않으며, 최근 들어 식생활의 변화, 사회환경 등에 의한 스트레스의 증가 등으로 탈모로 고민하는 인구가 늘어나고 있는 추세이고 그 연령 또한 낮아지고 있으며, 여성의 탈모 인구도 늘어나고 있는 실정이다.
- <10> 이러한 탈모증의 치료나 예방에 있어서 현재까지 가장 널리 사용되는 제제는 미녹시딜 함유 제제로서, 현재까지 미국 FDA의 승인을 받은 두 가지 발모제 성분 중의 하나이다. 미녹시딜은 혈압강하의 목적으로 개발된 고혈압 치료제이었지만 사용상의 부작용으로 발모 현상이 나타나면서 현재에는 발모제로 더 유명한 약물이 되었다. 미녹시딜의 발모 작용 기전에 대해서는 정확히 밝혀져 있지는 않지만, 혈관 확장 효과를 통한 혈류량 증가로 모근에 영양을 공급하여 모발 성장을 촉진하는 것으로 생각되고 있다.
- <11> 이러한 혈류량 증가 모델은 미녹시딜이 모근을 구성하는 주요세포인 모유두(dermal papilla)에서 혈관 확장에 관련된 성장 인자인 혈관내피성장 인자(VEGF; vascular endothelial growth factor)의 발현을 증가시킨다는 최근의 보고(Br. J. of Dermatol., 1998; 138: 407~411)에 의해서 간접적으로 증명된다. 또한, 미녹시딜의 발모효과 기전에 있어 혈관 확장 효과 이외에도 체외 배양 중인 모근의 모유두 세포 활성화(Skin Pharmacol., 1996; 9: 3~8) 및 모낭 조직 배양에서 모낭의 성장을 촉진한다는 연구 보고(J. Invest. Dermatol., 1989; 92:

315~320) 등은 미녹시딜이 모근에 직접적인 성장 인자로 작용함을 시사하고 있다.

<12> 이밖에 최근에 발매가 시작된 머크(Merck)사의 프로페시아(Propecia) 주성분인 피나스테라이드(finasteride)는 남성호르몬 테스토스테론이 더 강력한 형태의 남성호르몬인 디히드로테스토스테론으로 전환되는 것을 억제한다. 1997년 12월 남성형 탈모증의 치료제로 1mg 타블렛이 FDA로부터 사용 승인을 받아 현재 시판 중으로, 임상결과 유의할 만한 효과를 나타내는 것으로 판명되었으나 일부 남성 기능 억제 부작용도 보고되고 있다(J. Am. Acad. Dermatol., 1998; 39: 578~589). 그러나, 이 약물 또한 미녹시딜과 같이 임상효과가 그다지 탁월하지 못하고 부작용에 대한 우려 때문에 좀 더 우수한 발모제 탐색연구가 활발히 진행되고 있다.

<13> 한편, 사이클로스포린 류는 대표적인 면역 억제제인 동시에 바이러스, 진균, 원생동물을 억제하는 효과 및 부작용으로 신장독성, 간독성, 고혈압, 치주조직 비대, 발모효과 등 다양한 생리효과를 갖고 있다(Advances in Pharmacol., 1996; 35: 114~246 및 Drug Safety, 1994; 10: 310~317). 그 중 대표적인 사이클로스포린 A는 여러 개의 N-메틸아미노산(N-methyl amino acid)과 8번 위치에 D-알라닌(D-alanine)을 갖는 11 개 아미노산으로 구성된 환형의 펩타이드로 다음의 구조식 1로 나타낸다.

<14> (구조식 1)

<15>

MeBmt	—	Abu	—	Sar	—	MeLeu	—	Val	—	MeLeu	—	Ala	—	DAla	—	MeLeu	—	MeLeu	—	MeVal
1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		11

<16> 상기 식에서,

<17> MeBmt는 N-메틸-(4R)-4-[(E)-2-뷰텐일]-4-메틸-L-트레오닌

(N-methyl-(4R)-4- [(E)-2-butenyl]-4-methyl-L-threonine)이며,

<18> Abu는 L- α 아미노부티릭산(L- α aminobutyric acid)이며,

<19> Sar은 살코신(Sarcosine)이며,

<20> MeLeu는 N-메틸-L-루신(N-methyl-L-leucine)이며,

<21> Val은 L-발린(L-valine)이며,

<22> Ala는 L-알라닌(L-alanine)이며,

<23> DAla는 D-알라닌(D-alanine)이며,

<24> 또한, 상기 사이클로스포린 A의 아미노산의 형태는 다른 언급이 없으

면 L- 배치(L-configuration)이며, 아미노산 잔기 번호는 [구조식 1]에서 보듯이

MeBmt 를 1번으로 하고 시계 방향 순서대로 마지막 MeVal (N-메틸-L-발린

(N-methyl-L-Valine)를 11 번 으로 지정 하였다. 사이클로스포린 A 유도체 명

명법은 예를 들어 사이클로스포린 A의 9번 잔기인 N-메틸 L- 루신 이 감마 히

드록시 N-메틸 L-루신으로 치환된 경우 치환된 잔기만 표시하는[감마 히드록시

N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹]

cyclosporin A)로 표시하였다. 또 일반적으로 사용되는 아미노산 약어법 예

를 들어 MeLeu은 N-메틸-L-루신을, MeIle 는 N-메틸-L-이소루신을, MeVal는 N-

메틸-L- 발린을, MeAla는 N- 메틸-L-알라닌을 , MeNva는 N-메틸 -L-노르발린을, Leu는 L-루신을 , Ile는L- 이소루신을, Sar는 살코신을 의미 하는 것으로 사용 하였다.

<25> 사이클로스포린의 여러가지 부작용 중에서 모 과대 성장(발모) 부작용을 이용한 발모제로 개발 가능성이 그 동안 여러 연구에 의해 수행되어 왔다. 그 중에는 동물 발모실험(Arch, Dermatol. Res., 1996; 288: 408~410), 인간 원형 탈모증(J. Am. Acad. Dermatol., 1990; 22: 242~250), 인간 남성형 탈모증(J. Am. Acad. Dermatol., 1990; 22: 251~253 및 Skin Pharmacol., 1994; 7: 101~104) 및 화학요법에 의한 탈모 동물 모델에서도 탈모억제 효과(Clin. Lab. Invest., 1995; 190: 192~196 및 Am. J. Pathol., 1997; 150: 1433~1441) 등 매우 광범위하게 연구되었고 마우스 등판 실험 결과로 비교한다면 미녹시딜 보다 약 100배 정도 우수한 효과를 보여주고 있다. 이런 결과를 토대로 사이클로스포린을 남성형 탈모증에 발모제로 활용하고자 하는 노력의 결과로 여러 특허가 출원되었다.

<26> 예를 들어, 일본공개 특허공보 소 60-243008호, 소62-19512 호, 및 소 62-19513호와 8 번 위치가 변형된 사이클로스포린 유도체(유럽특허 공개공보 제0414632B1호), 이소 사이클로스포린(PCT 특허 공개공보 제93/17039호) 등에서는 이들 사이클로스포린 및 유도체를 이용한 발모제를 제공하고 있고, 미국특허 제5,807,820호 및 영국특허 2,218,334A 호에서는 사이클로스포린의 경피 흡수가 우수한 제제를 제시하여 발모제로 활용을 모색하고 있으나 , 여기에 사용된 모든 사이클로스포린류 들은 강력한 면역 억제력을 갖고 있어서 일반 탈모 증상에 사용 하기에는 비록 발모 효과가 우수하다고 하여도 면역억제라는 심각한 부

작용을 갖고 있어서 사용에 많은 한계가 있다. 최근에 세계특허 (WO 0051558)에서 비면역성 사이클로스포린 유도체를 이용한 발모 특허가 출원 공개 되었으나 본 발명에서 주장 하는 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A) 구조는 포함되어 있지 않다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<27> 본 발명은 상기 종래기술의 문제점을 고려하여 사이클로스포린의 주요 대사 산물(metabolite)인 M17 (1번 MeBmt의 η 위치에 히드록시가 첨가된 대사산물), M1, M21(4번 N- 메틸-L-루신에서 N-메틸이 떨어진 대사산물) (Transplant. Proc. 1985; 17: 19)을 대상으로 발모실험을 한 결과 유일하게 발모효과는 유지되고, 면역억제력이 감소된 M1인 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)을 이용한 모발 성장 촉진제를 제공하는 것을 목적으로 한다. 이 M1이라 명명된 물질은 사이클로스포린 A의 9번 잔기인 [N-methyl-L-leucine⁹]의 감마 탄소에 히드록시기가 첨가된 대표적인 물질대사 산물로 일반적으로 면역억제력이 사이클로스포린 A 보다 떨어지는 것으로 보고되고 있다 (Transplantation 1987; 43:123-127, Clin. Chem. 1990; 36:225-229, Transplant. Proc. 1988; 20:575-584).

<28> 사이클로스포린 A의 9 번 메틸루신의 감마탄소 위치에 히드록시기가 첨가된 하기 화학식 1로 나타내는[감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제를 제공한다.

【발명의 구성 및 작용】

<29> 본 발명은 상기 목적을 달성하기 위하여, 사이클로스포린 A의 9번 메틸루신의 감마탄소 위치에 히드록시기가 첨가된 사이클로스포린의 주요 대사산물 (metabolite)인 M1 즉 하기 화학식 1로 나타내는[감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)를 유효 성분으로 하는 모발 성장 촉진제를 제공한다.

<30> 【화학식 1】

A-B-C-D-E-F-G-H-OHMeLeu-I-J



<31> 상기 식에서,

<32> A는 N-메틸-(4R)-4-[(E)-2-뷰텐일]-4-메틸-L-트레오닌{MeBmt, N-methyl- (4R)-4-[(E)-2-butenyl]-4- methyl-L-threonine), (2S,3R,4R,6E)-3-설프히드릴-4-메틸-2-(메틸아미노)-6-옥테노익산 {(2S,3R,4R,6E)-3-sulphydryl-4-methyl-2-(methylamino)-6-octenoic acid} 또는 (2S,4R,6E)-3-옥소-4-메틸-2-(메틸아미노)-6-옥테노익산 {(2S,4R,6E)-3-oxo-4-methyl-2-(methylamino)-6-octenoic acid}이며,

<33> B는 L- α 아미노부티릭산 (Abu, L- α aminobutyric acid), L-알라닌 (Ala, L-alanine), L-트레오닌 (Thr, L-threonine), L-발린(Val, L-valine), 또는 L-노르발린(Nva, L-norvaline)이며,

- <34> C는 살코신 (Sarcosine), N-메틸-D-알라닌 {N-methyl-D-alanine, (D)-N(CH₃)-CH(CH₃)-CO-}, D-2-(메틸아미노)펜트-4-에노일 {(D)-2-(Methylamino)pent-4-enoyl, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂CHCH₂)-CO-}, D-2-(메틸아미노)펜트-4-이노일 {(D)-2-(Methylamino)pent-4-ynoyl, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂CCH)-CO-}, D-메틸티오살코신 {(D)-Sar(2-SMe), (D)-N(CH₃)-CH(SCH₃)-CO-}, N-메틸-D-세린 {N-methyl-D-Serine, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂OH)-CO-}, D-2-(메틸아미노)부타노일 {(D)-2-(methylamino)butanoyl, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂CH₃)-CO-}, N-메틸-D-노르발린 N-methyl-D-Norvaline {(D)-N(CH₃)-CH(CH₂CH₂CH₃)-CO-}, D-2-(메틸아미노)헥스-4-이노일 {(D)-2-(methylamino)hex-4-ynoyl, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂CCH₃)-CO-}, 또는 O-프로페닐-메틸-D-세린 {O-propenyl-N-methyl-D-Serine, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂OCH₂CHCH₂)-CO-} 이며,
- <35> D는 N-메틸-L-루신 (N-methyl L-leucine), 감마하이드록시 N-메틸 L-루신 (γ-hydroxy N-methyl L-leucine) 또는 L-발린 (L-valine)이며,
- <36> E는 L-발린 (L-valine) 또는 L-노르발린 (L-norvaline)이며,
- <37> F는 N-메틸-L-루신 (N-methyl-L-leucine) 감마하이드록시 N-메틸 L-루신 (γ-hydroxy N-methyl L-leucine) 또는 L-루신 (L-Leucine)이며,
- <38> G는 L-알라닌 (L-alanine) 또는 L-α 아미노부티릭산 (L-α aminobutyric acid)이며,
- <39> H는 D-알라닌 (D-alanine) 또는 D-세린 (D-serine),

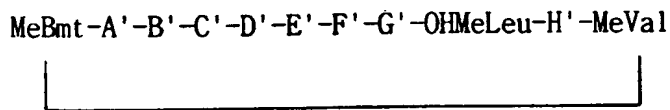
<40> OHMeLeu는 감마하이드록시 N-메틸- L-루신 (γ -hydroxy- N- methyl L-leucine)이며,

<41> I 는 N-메틸 L-루신(N-methyl L-leucine), 감마하이드록시 N-메틸 L-루신 (γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine) 또는 L-루신(L-leucine)이며,

<42> J는 N-메틸-L-발린 (N-methyl-L-valine) 또는 L-발린(L-valine)이다.

<43> 상기 화학식 1에 있어서 바람직하기로는 하기 화학식 2로 나타내는 발모효과가 우수한 [감마 하이드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제를 제공한다.

<44> 【화학식 2】



<45> 상기 식에서,

<46> MeBmt는 N-메틸-(4R)-4-[(E)-2-뷰텐일]-4-메틸-L-트레오닌{N-methyl-(4R)-4-[(E)-2-butenyl]-4- methyl-L-threonine)이며,

<47> A'는 L- α 아미노부티릭산 (Abu, L- α aminobutyric acid), L-알라닌 (Ala, L-alanine), L-트레오닌 (Thr , L-threonine), L-발린(Val, L-valine), 또는

<48> L-노르발린(Nva, L-norvaline)

- <49> B'는살코신 (Sarcosine), N-메틸-D-알라닌{N-methyl-D-alanine, (D)-N(CH₃)-CH(CH₃)-CO-}, D-2-(메틸아미노)펜트-4-에노일 {(D)-2-(Methylamino)pent-4-enoyl, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂CHCH₂)-CO-}, D-2-(메틸아미노)펜트-4-이노일 {(D)-2-(Methylamino)pent-4-ynoyl, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂CCH)-CO-}, D-메틸티오살코신 {(D)-Sar(2-SMe), (D)-N(CH₃)-CH(SCH₃)-CO-}, N-메틸-D-세린 {N-methyl-D-Serine, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂OH)-CO-}, D-2-(메틸아미노)부타노일 {(D)-2-(methylamino)butanoyl, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂CH₃)-CO-}, N-메틸-D-노르발린 N-methyl-D-Norvaline {(D)-N(CH₃)-CH(CH₂CH₂CH₃)-CO-}, D-2-(메틸아미노)헥스-4-이노일 {(D)-2-(methylamino)hex-4-ynoyl, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂CCH₃)-CO-}, 또는 O-프로페닐-메틸-D-세린 {O-propenyl-N-methyl-D-Serine, (D)-N(CH₃)-CH(CH₂OCH₂CHCH₂)-CO-}이며,
- <50> C'는 N-메틸-L-루신(N-methyl-L-leucine), 감마하이드록시 N-메틸-L-루신 (γ-hydroxy N-methyl L-leucine) 또는 L-발린(L-valine)이며,
- <51> D'는 L-발린(L-valine) 또는 L-노르발린(L-norvaline)이며,
- <52> E'는 N-메틸-L-루신(N-methyl-L-leucine) 감마하이드록시 N-메틸 L-루신(γ-hydroxy N-methyl L-leucine) 또는 L-루신(L-Leucine)이며,
- <53> F'는 L-알라닌 (L-alanine)또는 L-α아미노부티릭산 (L-α aminobutyric acid)이며
- <54> G'는 D-알라닌(D-alanine) 또는 D-세린(D-serine)이며,

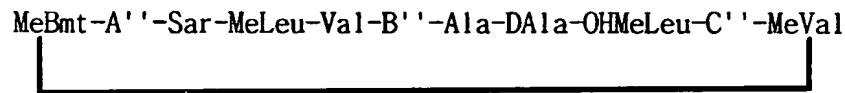
<55> OHMeLeu는 감마하이드록시 N-메틸- L-루신 (γ -hydroxy- N- methyl L-leucine)이며,

<56> H'는 N-메틸 L-루신(N-methyl L-leucine), 감마하이드록시 N-메틸 L-루신 (γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine) 또는 L-루신(L-leucine)이며,

<57> MeVal은 N-메틸-L-발린(N-methyl-L-valine)이다.

<58> 상기 화학식 1에 있어서 좀더 바람직하기로는 하기 화학식 3으로 나타내는 발모효과가 우수한 [감마 히드록시 N-메틸 L-루신⁹]사이클로스포린 A를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제를 제공 하는 것을 목적으로 한다.

<59> 【화학식 3】



<60> 상기 식에서,

<61> MeBmt는 N-메틸-(4R)-4-[(E)-2-뷰텐일]-4-메틸-L-트레오닌{N-methyl-(4R)-4-[(E)-2-butenyl]-4- methyl-L-threonine}이며,

<62> A''는 L- α 아미노부티릭산 (Abu, L- α aminobutyric acid), L-알라닌 (Ala, L-alanine), L-트레오닌 (Thr, L-threonine), L-발린(Val, L-valine), 또는 L-노르발린(Nva, L-norvaline)이며,

<63> Sar은 살코신 (Sarcosine)이며,

<64> MeLeu는 N-메틸-L-루신(N-methyl-L-leucine)이며,

<65> Val은 L-발린(L-valine)이며,

<66> B' '는 N-메틸-L-루신(N-methyl-L-leucine), 또는 L-루신(L-leucine)이며,

<67> Ala는 L-알라닌(L-alanine)이며,

<68> DAla는 D-알라닌(D-alanine) 이며,

<69> OHMeLeu는 감마하이드록시 N-메틸- L-루신 (γ -hydroxy- N- methyl
L-leucine)이며,

<70> C' '은 N-메틸-L-루신(N-methyl-L-leucine), 또는 L-루신(L-leucine)이며,

<71> MeVal은 N-메틸-L-발린(N-methyl-L-valine)이다.

<72> 상기 화학식 1에 있어서 더욱더 바람직하기로는 하기 화학식 4로 나타내는
발모효과가 우수한 [감마 히드록시 N-메틸 L-루신⁹]사이클로스포린 A를 유효성
분으로 하는 모발 성장 촉진제를 제공 하는 것을 목적으로 한다.

<73> 【화학식 4】

MeBmt-Abu-Sar-MeLeu-Val-MeLeu-Ala-DAla-OHMeLeu-MeLeu-MeVal



<74> MeBmt는 N-메틸-(4R)-4-[(E)-2-뷰텐일]-4-메틸-L-트레오닌{N-methyl-(4R)
-4-[(E)-2-butenyl]-4- methyl-L-threonine}이며,

<75> Abu 는 L- α 아미노부티릭산 (Abu, L- α aminobutyric acid)이며,

<76> Sar은 살코신 (Sarcosine)이며,

<77> MeLeu는 N-메틸-L-루신(N-methyl-L-leucine)이며,

<78> Val은 L-발린(L-valine)이며,

<79> DAla는 D-알라닌(D-alanine)이며,

<80> OHMeLeu는 감마하이드록시 N-메틸- L-루신 (γ -hydroxy- N- methyl L-leucine)이며,

<81> MeVal은 N-메틸-L-발린(N-methyl-L-valine)이다.

<82> 또한, [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)을 함유한 조성물의 제형이 액상, 스프레이, 겔, 페이스트, 유제, 크림, 콘디셔너, 또는 샴푸인 모발성장 촉진제를 제공한다.

<83> 이하에서 본 발명을 상세히 설명한다.

<84> 본 발명은 신규 발모 성분을 개발하기 위하여 여러 유도체의 발모 실험을 한 결과 신규 모발 성장 촉진제 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)를 제공하는 것을 목적으로 한다.

<85> 참고예

<86> 참고예 1. 대사산물 M21([루신⁴] 사이클로스포린 A([Leu⁴]cyclosporin A)의 제조)

<87> 데카펩타이드(H-Val-MeLeu-Ala-(D)Ala-MeLeu-MeLeu-MeVal-MeBmt(Ac)-Abu-Sar-OMe)를 벤조트리아졸-1-일 -옥시-트리스-(디 메틸아미노)-포스포늄 헥

사플루 오로포스페이트

(benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(dimethylamino)-phosphonium

hexafluorophosphate)와 디메틸아미노피리딘(dimethylaminopyridine)을 축합시

약으로 사용하여 박-루신(Boc-Leu-OH)과 축합한 후 얻은 운데카펩타이드를 소듐

히드록시드(NaOH)와 트리플루오로아세트에시드(TFA)로 보호기를 제거한 후 벤조

트리아졸-1-일-옥시-트리스-(디메틸아미노)-포스포늄헥사플루오로포스페이트

(benzotriazol-1-yl-oxy-tris-(dimethylamino)-phosphonium

hexafluorophosphate)와 디메틸아미노피리딘(dimethylaminopyridine)을 사용하

여 고리화반응을 하여 치환된 사이클로스포린 A-아세테이트를 얻은 후 소듐메

톡사이드(NaOMe)를 사용하여 아세틸을 제거하여 대사산물 M21 ([루신⁴] 사이클로

스포린 A([Leu⁴]cyclosporin A, 4번 N-메틸-L-루신에서 N-메틸기가 떨어진 대사

산물)를 합성하였다. 이 M21을 실험예 1의 방법으로 실험시 발모효과가 없음을

알수 있었다.

<88> 참고예 2. 대사산물 M17 (1번 MeBmt의 7 위치에 히드록시가 첨가된 대사산물)의

제조

<89> 사이클로스포린 A의 1번위치의 OH기를 아세트 연하이드라이드(acetic

anhydride)를 사용하여 [O-아세틸] 1사이클로스포린 A를 합성한 후 N-브로모수

신이미드 (N-bromosuccinimide)와 아조비스아이소부티로나이트릴

(azobisisobutyronitrile) 촉매하에서 환류하여 [O-아세틸-6-브로모] 1사이클로

스포린 A를 합성하였으며, 에틸메틸케톤(ethyl methyl ketone) 용매에 테트라암

모늄 아세테이트 (tetrabutylammonium acetate)와 소듐아이오다이드 (sodium iodide) 촉매하에 가열하여 [6 -아세톡시-O-아세틸] 1사이클로스포린 A를 합성 하였고, 0.5M 소듐메톡사이드(sodium methoxide)용액을 사용하여 디아세틸화하여 M17을 합성 하였다. 이 화합물은 Mass와 NMR로 확인하였다. 이 M17을 실험예 1의 방법으로 실험시 발모효과가 없음을 알수 있었다.(J. Org. Chem. 1992; 57: 2689-2691)

<90> 실시예 1. [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A) 의 제조)

<91> 여기에서는 미생물에 의해 변형 후 발모효과가 유지되는 [감마 히드록시 N-메틸 L-루신⁹]사이클로스포린 A의 제조 실시예를 기술한다.

<92> 먼저, 사이클로스포린 유도체를 제조하기 위하여 사용된 균주는 Pseudonocardia autotrophica KCTC 9441 이며, 배양배지는 글루코즈(glucose) 0.7%, 효모 추출물(yeast extract) 0.45%, 맥아엑스 (malt extract) 0.5%, 수용성 풀(soluble starch) 1.0%, 탄산칼슘(CaCO₃) 0.005 %가 포함된 배지이며, 배양온도는 27℃였다 (J. Antibiotics, 1996 49 781-787).

<93> 발효기를 이용하여 균주를 배양할 때는 먼저 4일간 삼각 플라스크를 이용하여 전배양한 후, 4ℓ 발효기에서 상기 배지를 이용하여 배양하였다. 본 배양이 시작되고 24시간이 지난 후 메탄올에 녹인 사이클로스포린 A를 배지에 100 mg/ℓ의 농

도로 첨가하고 72시간을 더 배양하였다. 배양이 끝난 후 시료의 회수를 위하여 전체 배양액을 배지와 같은 양의 에틸아세테이트로 추출한 후 유기 용매층을 농축하고 농축한 시료는 액체 크로마토그래피로 분리 및 분취하였다. 이때의 사이클로스포린 유도체를 보여주는 액체 크로마토그래피 결과를 도 1에 나타내었다. 여기서 머무름시간 22-23분대 피크는 사이클로스포린 A이고 15분대 피크가 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)이다.

<94> 이때 사용한 분리조건은 C-18컬럼을 사용 하였으며, 용매조건은 2 분까지 100% 용매 A 로 흘려주고 4 분까지 용매 A 의 농도를 60% 로 낮춘 후 60분까지 용매 A의 농도를 39% 까지 서서히 감소시켜 시료를 용출시킨 후 65분까지 다시 원래의 조건인 100% 용매 A로 변화시키는 조건을 사용하였다. 이때 용매 A는 25% 메탄올 수용액이며, 용매 B는 100% 아세토니트릴이다.

<95> 이[감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)는 또한 토끼간의 마이크로조말 효소를 이용하여 조제할 수 있다.

<96> 우선 뉴질랜드 흰토끼의 간을 떼어낸후 0.1M 인산칼륨염 완충액에 5분 담근다. 잘게 부순 간 조직을 호모게나이저로 갈아서 원심분리(9000g, 4도, 20분)하여 상층액만 따낸다. 이 상층액은 다시 원심분리(10,500g, 1시간)을 한 뒤 상층액은 따라내버리고 남아있는 펠렛은 0.1 M 인산염완충생리식염수에 녹여서 효소 원으로

사용 한다(Transplant Proc 1988;17:633-6). 만들어진 마이크로조말 효소(50mg)과 사이클로스포린(1mg), NADPH(5mM)를 증류수를 섞어 적당양으로 맞춘 후 37도 항온수조에서 1 시간 동안 반응시킨 반응물을 동량의 에칠아세테이트로 추출하여 분석하였다.

<97> [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)의 구조분석

<98> [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A) (C₆₂H₁₁₁N₁₁O₁₃)의 분자량확인 결과 FAB MS(ZMS AX 505H)로 부터 m/z 1219 [M+H]⁺ 피크를 확인하여 산소원자 하나가 첨가된 것을 확인 하였고 구조 확인을 위해 핵자기공명법 ¹H-NMR(Bruker NMR 600MHz) (도 2) 와 ¹³C-NMR(Bruker NMR 150 MHz)(도 3) 을 이용하였다.

<99> 제제예 1. [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A) 함유 발모토닉의 제조)

<100> 표 1에 나타난 3가지 제형으로 각각의 원료를 혼합하고 교반하여 완전히 녹여서 발모토닉을 제조하였다. 하기 실험예 1의 동물 평가 시험을 통하여 표 1에 나오는 제형 1을 0.1% 사이클로스포린 A 함유 발모토닉 과 비교해 본 결과 유사한 정도의 발모 효과를 확인하였다.

<101> 【표 1】

원료명	제형 1	제형 2	제형 3
1. 에탄올	40.0	40.0	40.0
2. [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신 ⁹]사이클로스포린 A	0.1	1.0	8.0
3. 초산토코페롤	0.1	0.1	0.1
4. 살리실산	0.3	0.3	0.3
5. 엘-멘톨	0.3	0.3	0.3
6. 트윈 20	0.5	0.5	0.5
7. 향료	적량	적량	적량
8. 색소	적량	적량	적량
9. 물	100 중량%가 될 때까지 첨가		

<102> 제제예 2. [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A) 함유 헤어크림의 제조

<103> 표 2에 나타낸 3 가지 제형으로 각각의 원료 중 유상원료 및 수상원료를 각각 별도로 혼합하고 80℃까지 가열하여 완전히 녹였다. 제조된 80℃의 유상원료와 수상원료를 혼합하고 유화시킨다. 유화완료후 상온까지 냉각한 후 향료와 색소를 첨가 혼합하여 헤어크림을 제조하였다. 물량은 유상원료와 수상원료의 합을 100 중량%로 맞추어 첨가하였다.

<104> 하기 실험에 1의 동물 평가 시험을 통하여 표 2에 나오는 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A 0.1% 함유 헤어크림을 0.1% 사이클로스포린 A 함유 헤어크림과 비교해본 결과 유사한 정도의 발모 효과를 확인하였다.

<105> 【표 2】

원료명	제형 1	제형 2	제형 3
1. 파라핀	5.0	5.0	5.0
2. 세토스테아릴알코올	5.5	5.5	5.5
3. 페트로라툼	5.5	5.5	5.5
4. 글리세린모노스테아레이트	3.0	3.0	3.0
5. 폴리옥시에틸렌옥틸도데실에테르	3.0	3.0	3.0
6. 프로필파라벤	0.3	0.3	0.3
7. [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신 ⁹]사이클로스포린 A	0.1	1.0	8.0
8. 글리세린	7.0	7.0	7.0
9. 디프로필렌글리콜	20.0	20.0	20.0
10. 폴리에틸렌글리콜	5.0	5.0	5.0
11. 물	1-11 합이 100%가 될 때까지 첨가		
12. 향료	적량	적량	적량
13. 색소	적량	적량	적량

<106> 제제예 3. [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)함유 샴푸의 제조

<107> 표 3에 나타낸 3 가지 제형으로 각각의 원료 중 향료, 색소, 및 물을 제외한 원료들을 혼합한 후 가열하면서 교반하여 완전히 용해시키고, 상온으로 냉각한 후 향료와 색소를 첨가후 최종적으로 물을 첨가 하여 100 중량%로 맞추어 샴푸를 제조하였다.

<108> 【표 3】

원료명			
1. POE라우릴황산나트륨(30%)	40.0	40.0	40.0
2. 야자유지방산디에탄올아미드	3.0	3.0	3.0
3. 프로필렌글리콜	2.0	2.0	2.0
4. 파라옥시안식향산메틸	0.2	0.2	0.2
5. 에탄올	2.0	2.0	2.0
6. [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신 ⁹]사이클로스포린 A	1.0	3.0	10.0
7. 살리실산	0.3	0.3	0.3
8. 엘-멘톨	0.3	0.3	0.3
9. 향료	적량	적량	적량
10. 색소	적량	적량	적량
물	100중량%가 될 때까지 첨가		

<109> 제제예 4. [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A) 함유 헤어컨디셔너의 제조

<110> 표 4에 나타낸 3가지 제형으로 각각의 원료 중 유상원료 및 수상원료를 각각 별도로 혼합하고 80℃까지 가열하여 완전히 녹였다. 제조된 80℃의 유상원료

와 수상원료를 혼합하고 유화시킨다. 유화완료 후 상온까지 냉각한 후 향료와 색소를 첨가 혼합하여 헤어크림을 제조하였다. 물량은 유상원료와 수상원료의 합을 100 중량%로 맞추어 첨가하였다.

<111> 【표 4】

원료명			
1.세탄올	3.0	3.0	3.0
2. 자기유화형모노스테아린산글리세린	2.0	2.0	3.0
3. 스쿠알렌	10.0	10.0	10.0
4. [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신 ⁹]사이클로스포린 A	1.0	5.0	10.0
5. 프로필렌글리콜	2.0	2.0	2.0
6. 염화스테아릴디메틸벤질암모늄(25%)	8.0	8.0	8.0
7. 파라옥시안식향산메틸	0.2	0.2	0.2
8. 살리실산	0.3	0.3	0.3
9. 엘-멘톨	0.3	0.3	0.3
10. 물	100%중량이되도록 첨가		
11. 향료	적량	적량	적량
12. 색소	적량	적량	적량

<112> 실험예 1. [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)유도체의 모발 성장 촉진 효과 시험

<113> 모발 성장 촉진 효과 시험은 생후 42~49 일이 된 마우스(C57BL/6, female)를 사용하였다. 먼저 등 부위의 털을 전기면도기로 제거하고, 각 마우스의 무게를 재서 몸무게를 고루 분산이 되도록 여러 마리씩 나누었다. 하루 동안 적응 기간을 두고 다음날부터 체모 부위에 사이클로스포린 A와 사이클로스포린 A의 주요 대사산물인 M1{[감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)}, M17, M21 및 대조군 100 μ l (0.05% w/v)를 1 일 1 회 20~30 일간 도포하였다. 그 결과는 털이 자란 정도를 육안판정하고 사진 촬영하였다. 도 4는 C57BL/6 마우스를 이용한 사이클로스포린 A와 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A 유도체들의 발모 효과를 평가 실험한 사진으로 대조군을 나타낸 것이다. 도 5는 C57BL/6 마우스를 이용한 사이클로스포린 A와 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A유도체들의 발모 효과를 평가 실험한 사진으로 사이클로스포린 A를 적용한 군을 나타낸 것이다. 도 6은 C57BL/6 마우스를 이용한 사이클로스포린 A와 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A 유도체들의 발모 효과를 평가 실험한 사진으로 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A를 적용한 군을 나타낸 것으로 발모효과가 변형 전 사이클로스포린 A 와 유사함을 알 수 있었다. 이와는 달리 대사산물 M 17 과 M 21은 발모 효과가 없음을 알 수 있었으며 사이클로스포린 A의 주요 대사산물인 M1, M17, M21중에서 M1인 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A 만 유일하게 발모 효과를 유지하는 것을 알 수 있었다. 20 일 실험과정 중 등판 상태를 비교한 결과 대조군 및 모든 처리군 에서 특이한 피부 자극 소견이 발견되지 않았다.

<114> 실험예 2. [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A 유도체의 면역억제
력 시험

<115> 면역억제력 비교실험은 건강한 사람의 혈액으로부터 얻은 말초 단핵세포 (PBMC)를 이용하여, MLR(Mixed lymphocyte reaction, J.Antibiotics, 1994; 47: 208~215)법과 세포분열 자극제인 PHA(Phytohemagglutinin)처리 상태에서 분열 억제력 시험법을 사용하였다.

<116> 먼저, MLR시험을 위하여 마이토마이신-씨($30\mu\text{g}/\text{ml}$, 30분)를 처리한 세포 군($4 \times 10^6/\text{ml}$)을 자극세포로 사용하여 동수의 아무것도 처리하지 않은 반응 세포 군과 혼합하여 4 일 동안 배양하였다. 이때 사이클로스포린 A와 시험하고자 하는 다양한 유도체들을 10^{-6} 몰 농도부터 순차적 희석법에 의해 10^{-11} 몰 까지 처리하였다. 4일 배양 후 ^3H -Thymidine을 첨가하여 16시간 추가 배양한 후 세포로 유입된 티미딘(thymidine) 양을 측정(liquid scintillation counter)하여 각 물질의 $\text{IC}_{50}(\mu\text{g}/\text{ml})$ 을 계산하였다.

<117> 그 결과 사이클로스포린 A의 IC_{50} 은 0.035, 0.025, 0.030인 반면에 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)의 IC_{50} 은 0.165, 0.178, 0.150을 보여 면역 억제력이 감소하는 것을 알았으며 이는 문헌(Transplantation 1987;43:123-127)과 유사 하였다.

<118> 또한, PHA 자극에 대한 분열 억제력 실험은, 동수의 단핵세포에 PHA($10\mu\text{g}/\text{ml}$)을 처리한 후 사이클로스포린 A와 시험하고자 하는 다양한 유도체들을 10^{-6} 몰 농도부터 순차적 희석법에 의해 10^{-11} 몰까지 처리하고 3 일 동안 배양하였다.

그리고, MLR법에서처럼 티미딘 16시간 첨가 배양 후, 각 물질의 $\text{IC}_{50}(\mu\text{g}/\text{ml})$ 을 계산하였다. PHA 자극에 대한 분열 억제력 실험결과 사이클로스포린 A의 $\text{IC}_{50}(\mu\text{g}/\text{ml})$ 은 0.25, 0.45, 0.32인 반면 [감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)는 1.23, 2.25, 1.50을 보여 면역억제 효과가 감소하는 것을 확인할 수 있었다.

<119> 이러한 결과를 적용하여 액상, 스프레이, 젤, 페이스트, 유제, 크림, 콘디셔너, 샴푸 등의 다양한 제형이 가능하나 상업적으로 많이 이용되는 발모토닉, 헤어크림, 헤어콘디셔너, 헤어샴푸를 제조하였다.

<120> 본 발명의 모발 성장 촉진제에 있어서, 모발 성장 효과를 기대하는 투여량은 조성물 전체 중량에 대하여 0.01~30% 농도이며, 바람직하게는 0.1~10% 농도이다.

【발명의 효과】

<121> 본 발명의 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)유도체를 유효성분으로 함유하는 모발 성장 촉진제는 면역억제력은 약하면서도 탁월한 모발 성장 효과를 나타낸다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

[감마 히드록시 N-메틸-L-루신⁹]사이클로스포린 A ([γ -hydroxy-N-methyl-L-leucine⁹] cyclosporin A)를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제.

【청구항 2】

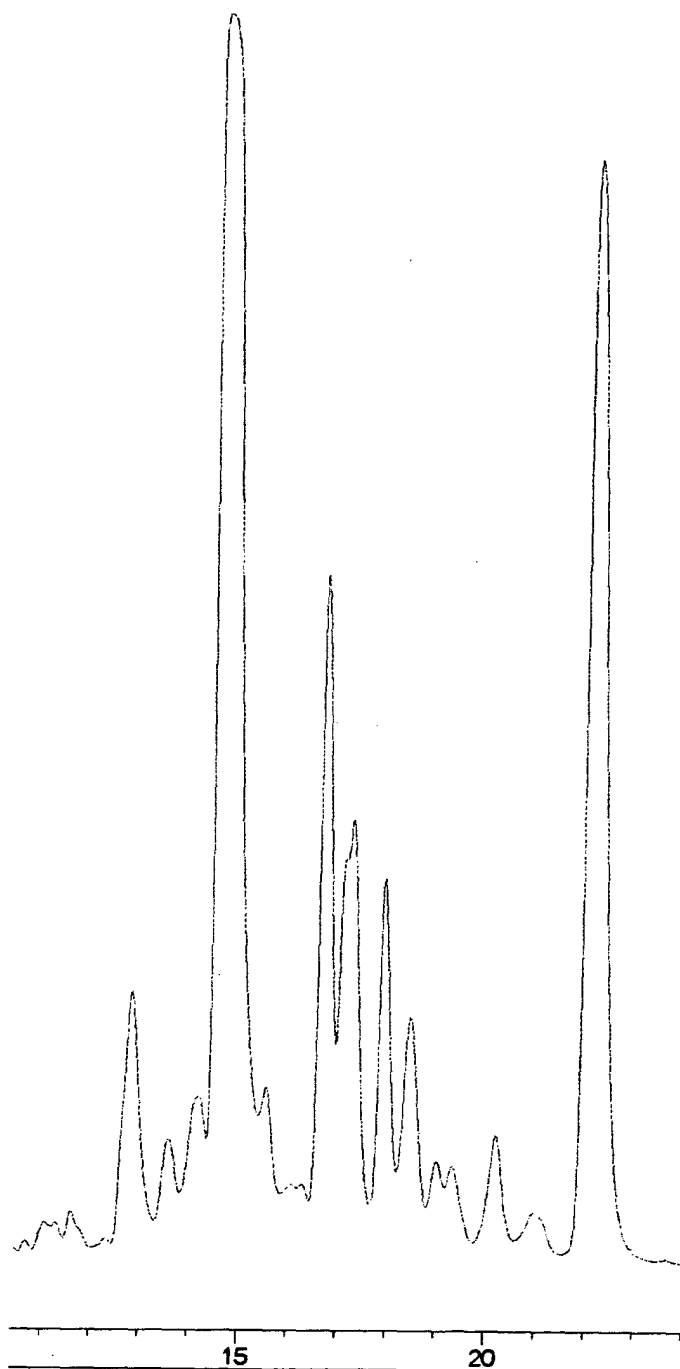
제 1 항에 있어서, 상기 모발 성장 촉진제의 제형이 액상, 스프레이, 젤, 페이스트, 유제, 크림, 콘디셔너 또는 샴푸인 것을 특징으로 하는 모발 성장 촉진제.

1020010007263

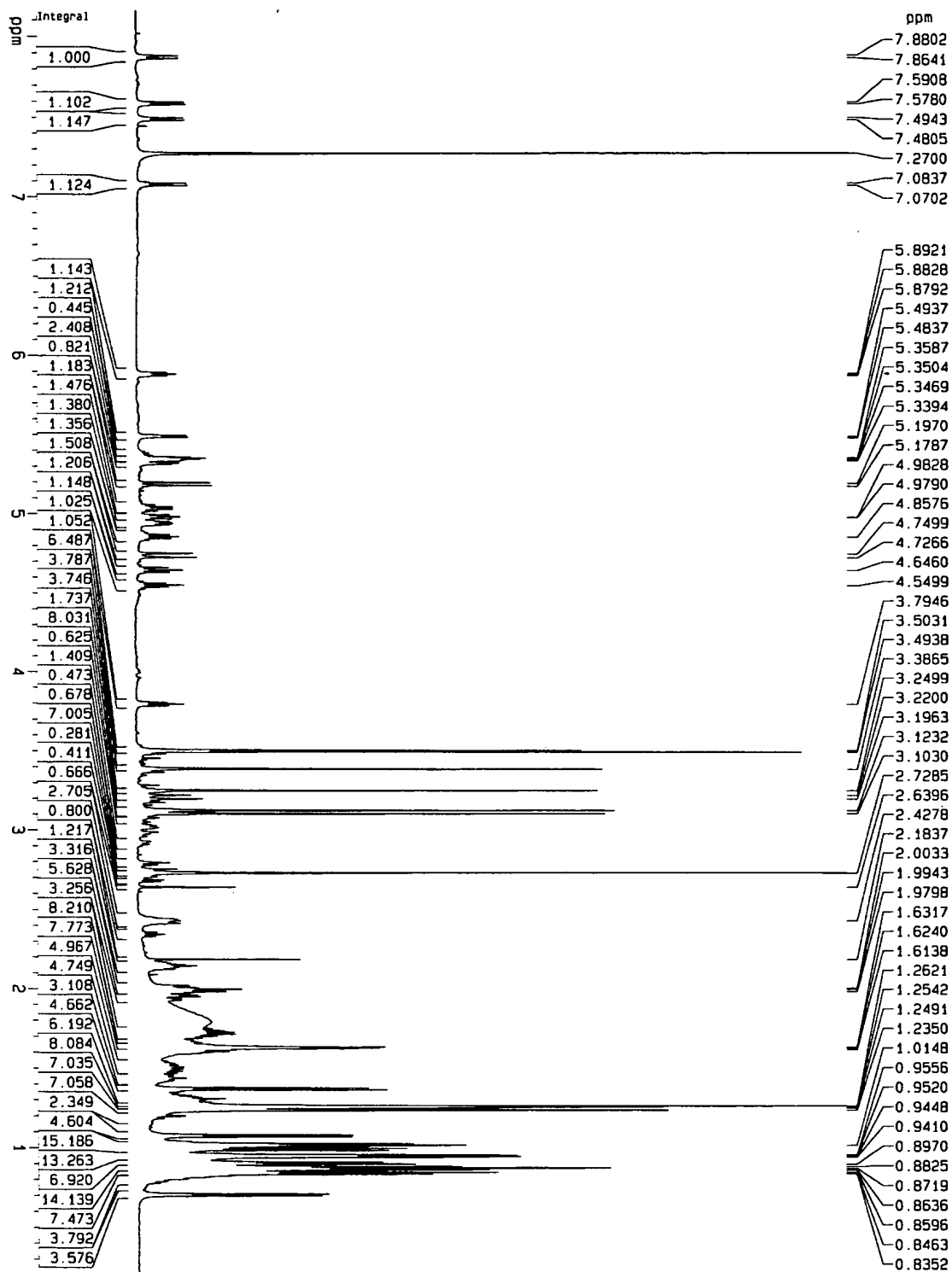
출력 일자: 2002/2/9

【도면】

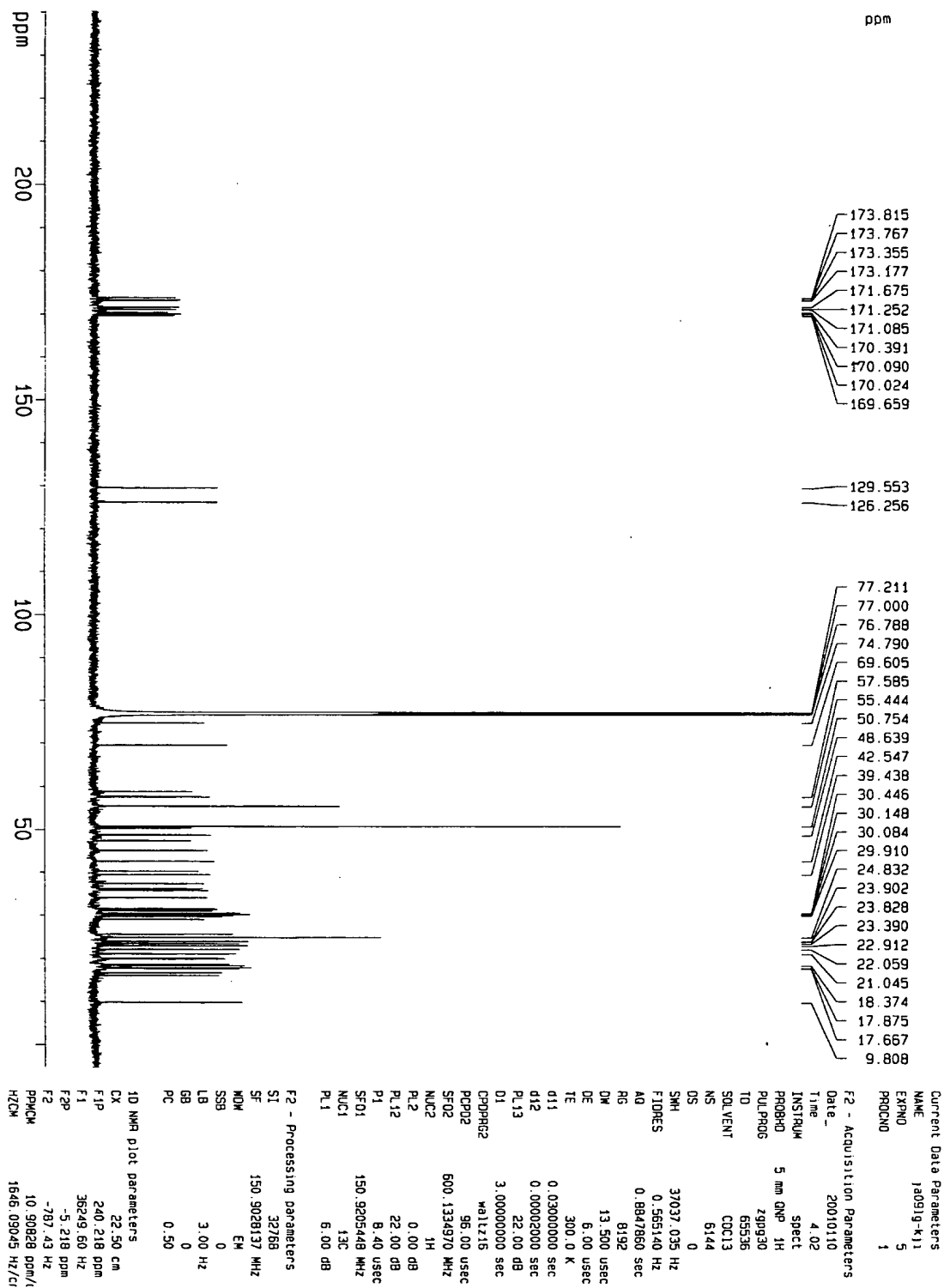
【도 1】



【도 2】



【도 3】



【도 4】

Control -acetone (♀:20days)



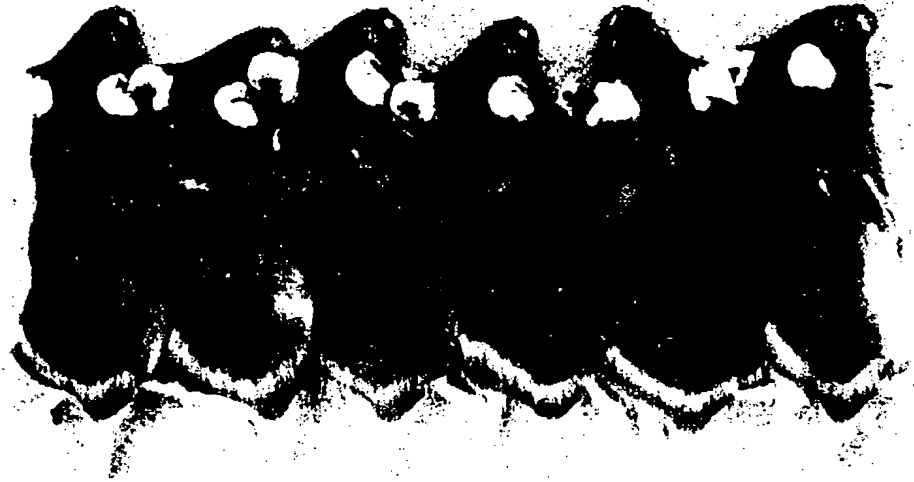
【도 5】

[γ -Hydroxy-N-Methyl-L-Leucine^o]CsA 0.05% (♀:20days)



【도 6】

CsA 0.05% (♀:20days)



【서지사항】

【서류명】 명세서 등 보정서

【수신처】 특허청장

【제출일자】 2002.02.01

【출원인】

【명칭】 주식회사 엘지생활건강

【출원인코드】 1-2001-013334-8

【사건과의 관계】 출원인

【대리인】

【성명】 이병현

【대리인코드】 9-1999-000297-5

【포괄위임등록번호】 2001-026534-9

【사건의 표시】

【출원번호】 10-2001-0007263

【출원일자】 2001.02.14

【발명의 명칭】 [감마 히드록시 엔- 메틸-엘-루신9] 사이클로스포린 에이를 유효성분으로 하는 모발 성장 촉진제

【제출원인】

【접수번호】 1-1-01-0031711-97

【접수일자】 2001.02.14

【보정할 서류】 명세서등

【보정할 사항】

【보정대상 항목】 별지와 같음

【보정방법】 별지와 같음

【보정내용】 별지와 같음

【취지】 특허법시행규칙 제13조·실용신안법시행규칙 제8조의 규정에의하여 위와 같 이 제출합니다. 대리인 이병현 (인)

【수수료】

【보정료】 0 원

【추가심사청구료】 0 원

【기타 수수료】 0 원

【합계】 0 원

【보정대상항목】 식별번호 23

【보정방법】 정정

【보정내용】

DAla는 D-알라닌(D-alanine)이며,

MeVal은 N-메틸-L-발린(N-methyl-L-valine)이다.

【보정대상항목】 식별번호 50

【보정방법】 정정

【보정내용】

C'는 N-메틸-L-루신(N-methyl-L-leucine), 감마하이드록시 N-메틸-L-루신(γ -hydroxy -N- methyl L-leucine) 또는 L-발린(L-valine)이며,

【보정대상항목】 식별번호 89

【보정방법】 정정

【보정내용】

사이클로스포린 A의 1번위치의 OH기를 아세트릭 언하이드라이드(acetic anhydride)를 사용하여 [O-아세틸] 1사이클로스포린 A를 합성한 후 N-브로모수신이미드 (N-bromosuccinimide)와 아조비스아이소부티로나이트릴 (azobisisobutyronitrile) 촉매하에서 환류하여 [O- 아세틸-6-브로모] 1사이클로스포린 A를 합성하였으며, 에틸메틸케톤(ethyl methyl ketone) 용매에 테트라부틸암모늄 아세테이트 (tetrabutylammonium acetate)와 소듐아이오다이드 (sodium iodide) 촉매하에 가열하여 [6 -아세톡시-O-아세틸] 1사이클로스포린 A를 합성

하였고, 0.5M 소듐메톡사이드(sodium methoxide)용액을 사용하여 디아세틸화하여 M17을 합성 하였다. 이 화합물은 Mass와 NMR로 확인하였다. 이 M17을 실험에 1의 방법으로 실험시 발모효과가 없음을 알수 있었다.(J. Org. Chem. 1992; 57: 2689-2691)

【보정대상항목】 식별번호 96

【보정방법】 정정

【보정내용】

우선 뉴질랜드 흰토끼의 간을 떼어낸후 0.1M 인산칼륨염 완충액에 5분 담근다. 잘게 부순 간 조직을 호모게나이저로 갈아서 원심분리(9000g, 4도, 20분)하여 상층액만 따라낸다. 이 상층액은 다시 원심분리(10,500g, 1시간)을 한 뒤 상층액은 따라내버리고 남아있는 펠렛은 0.1 M 인산염완충생리식염수에 녹여서 효소원으로 사용 한다(Transplant Proc 1988;17:633-6). 만들어진 마이크로조말 효소(50mg)과 사이클로스포린(1mg), NADPH(5mM)를 증류수를 섞어 적당양으로 맞춘 후 37도 항온수조에서 1 시간 동안 반응시킨 반응물을 동량의 에칠아세테이트로 추출하여 분석하였다.

【보정대상항목】 식별번호 111

【보정방법】 정정

【보정내용】

【표 4】

원료명			
1. 세탄올	3.0	3.0	3.0
2. 자기유화형모노스테아린산글리세린	2.0	2.0	3.0
3. 스쿠알렌	10.0	10.0	10.0
4 [감마 히드록시 N- 메틸-L-루신 ⁹]사이클로스포린 A	1.0	5.0	10.0
5. 프로필렌글리콜	2.0	2.0	2.0
6. 염화스테아릴디메틸벤질암모늄(25%)	8.0	8.0	8.0
7. 파라옥시안식향산메틸	0.2	0.2	0.2
8. 살리실산	0.3	0.3	0.3
9. 엘-멘톨	0.3	0.3	0.3
10. 물	100 중량%가 되도록 첨가		
11. 향료	적량	적량	적량
12. 색소	적량	적량	적량

【보정대상항목】 식별번호 115

【보정방법】 정정

【보정내용】

면역억제력 비교실험은 건강한 사람의 혈액으로부터 얻은 말초 단핵세포 (PBMC)를 이용하여, MLR(Mixed lymphocyte reaction, J.Antibiotics, 1994; 47: 208~215)법과 세포분열 자극제인 PHA(Phytohemagglutinin)처리 상태에서 분열 억제력 시험법을 사용하였다.